



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**FATORES QUE INFLUENCIAM A TAXA DE CONCEÇÃO EM BOVINOS SUJEITOS A
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL**

Beatriz Tavares Rebimbas

Coimbra, junho de 2016



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**FATORES QUE INFLUENCIAM A TAXA DE CONCEÇÃO EM BOVINOS SUJEITOS A
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL**

Coimbra, junho de 2016

Beatriz Tavares Rebimbas

Aluna do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Presidente do Júri

Professor Doutor Manuel Sant'Ana

Arguente

Professor Doutor António Rocha

Orientador Interno

Professora Doutora Sofia Duarte

Co-Orientador

Dr. Nuno Tavares

**Dissertação do Estágio curricular do ciclo de
estudos conducente ao Grau de Mestre em
Medicina Veterinária da EUVG**

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de alguns fatores na taxa de concepção (TC) de bovinos sujeitos a inseminação artificial (IA). Os fatores analisados foram: tipo de cio (natural ou induzido), estação do ano, ano de inseminação, sémen utilizado (raça, convencional, sexado fêmea ou *SpermVital*), aptidão do animal inseminado (leite ou carne), paridade (nulípara ou parípara) e exploração.

Para tal foram recolhidos dados entre Outubro de 2014 e Março de 2016, em várias explorações de leite e de carne, dos distritos de Aveiro e Coimbra, com dimensão máxima do efetivo adulto de 50 animais. Foram considerados 461 procedimentos de IA, após deteção de cio natural ou induzido por um de três protocolos: *Ovsynch*, *Presynch* ou colocação de Dispositivo de Libertação Intravaginal de Progesterona. Utilizou-se sémen das raças Frísia, Montbéliarde, Vermelho Norueguês, Pardo Suíço, Limousine, Angus, Charolês e Marinhoa. O diagnóstico de gestação foi feito por palpação retal entre os 30 e os 60 dias, tendo a confirmação ocorrido 15 a 30 dias após o primeiro diagnóstico.

Após análise estatística, apenas a paridade ($p=0,004$) e o tipo de sémen ($p=0,005$) foram considerados significativos na influência da TC. Baseado nas estimativas de *odds ratio*, as nulíparas obtiveram 2,319 em relação às múltiparas, com TC de 62,07% vs. 47,58%, respetivamente. Para além da paridade, o tipo de sémen também influenciou a TC. De entre os tipos de sémen utilizados, sexado fêmea, *SpermVital* e convencional, a TC foi superior no último caso (15,38%, 41,03% e 52,29% respetivamente).

Palavras-Chave

Inseminação artificial, paridade, sémen, taxa de concepção.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the influence of major factors in the conception rate (TC) of cattle subject to artificial insemination (IA). The studied factors were: type of heat (natural or induced), season, year of insemination, semen used (breed, conventional, sexed female and SpermVital), animal aptitude (dairy or beef), parity (nulliparous or pariparous) and inner farm factors.

For such purpose, data was collected from October 2014 to March 2016, on several dairy and beef farms in the districts of Aveiro and Coimbra, with a maximum herd size of 50 animals. A total of 461 AI procedures were contemplated, after natural or induced estrus detection by three protocols: Ovsynch, Presynch or placement of an Intravaginal Progesterone release device. Semen from different breeds was used, as follows: Friesian, Montbéliard, Red Norwegian, Brown Swiss, Limousine, Angus, Charolaise and Marinhoa. Pregnancy diagnosis was made by rectal palpation between 30 and 60 days' post-insemination, and confirmation occurred 15 to 30 days after the first diagnosis.

After statistical analysis, only the parity ($p = 0,004$) and class of sperm ($p = 0,005$) were considered to significantly influence TC. Based on estimates of odds ratios, the nulliparous group obtained 2,319 compared to multiparous with TC 62,07% vs. 47,58%, respectively. Aside from parity, the type of semen also influenced TC. Among the semen classes used, female sexed, SpermVital and conventional, TC was superior in the latter case (15,38%, 41,03% and 52,29% respectively).

Keywords

Artificial insemination, parity, sémen, conception rate.

Agradecimentos

À Professora Doutora Sofia Duarte agradeço a orientação ao longo deste trabalho.

Ao Dr. Nuno Tavares agradeço todos os conhecimentos que me foi passando, a enorme paciência, a amizade e todo o tempo que disponibilizou para me guiar.

Ao Doutor Nuno Carolino estou grata pelo auxílio e cooperação durante a elaboração deste trabalho.

À Dr.^a Joana Melim, à equipa da Proleite, ao Dr. Manuel Pinheiro e ao Dr. José Vilela um agradecimento por me permitido acompanhá-los e transmitirem os seus conhecimentos.

Ao Tiago agradeço toda a paciência e compreensão que tem comigo, a motivação e a confiança que me transmite.

Aos amigos e ao núcleo obrigada pela amizade, pela entreaajuda e principalmente pelos conselhos e gargalhadas ao longo destes anos.

À minha tia, um obrigada por ter permitido que chegasse até aqui. Aos meus irmãos um agradecimento pela paciência.

Aos meus pais, um agradecimento por me suscitarem o gosto pela veterinária.

Índice

1.	Introdução.....	12
2.	Material e Métodos	14
2.1.	Amostragem	14
2.2.	Tipo de Sémen	14
2.3.	Aptidão do Animal Inseminado.....	14
2.4.	Estação do Ano	14
2.5.	Tipo de Cio	15
2.6.	Inseminação Artificial.....	17
2.7.	Diagnóstico de Gestação	17
2.8.	Análise Estatística	18
3.	Resultados e Discussão	19
3.1.	Paridade	19
3.2.	Tipo de Sémen	21
3.3.	Tipo de Cio	23
3.4.	Estação do Ano	24
3.5.	Aptidão do Animal Inseminado.....	27
3.6.	Raça do Sémen.....	28
3.7.	Exploração.....	29
3.8.	Ano de Inseminação.....	29
4.	Conclusões.....	30
5.	Bibliografia	31
6.	Anexos.....	34

Índice de Figuras

Figura 1 – Representação esquemática do protocolo <i>Ovsynch</i> , utilizado em animais com anestros do tipo II e III (Adaptado de Brusveen <i>et al.</i> , 2008).....	15
Figura 2 – Representação esquemática do protocolo <i>Presynch</i> , utilizado em animais cíclicos e com corpo lúteo (Adaptado de Moreira <i>et al.</i> , 2001).....	16
Figura 3 - Representação esquemática do protocolo baseado na administração de progesterona, utilizado em animais em anestro ou subestro (Adaptado de Chebel <i>et al.</i> , 2010; Garcia-Ispuerto <i>et al.</i> , 2012).....	17
Figura 4 – Exemplo de ficha <i>pocket</i>	34

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Taxas de concepção do tipo de cio associadas à paridade e aptidão.	23
Gráfico 2 – Taxas de concepção associadas à estação de ano.	25
Gráfico 3 – Taxas de concepção associadas à estação de ano e ao tipo de cio.	26
Gráfico 4 – Taxas de concepção associadas à aptidão do animal inseminado.	27

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Resultados da análise da regressão logística.....	19
Tabela 2 – Estimativas de <i>odds ratio</i> (OR) relativas à paridade.....	19
Tabela 3 – Taxas de concepção associadas à paridade	20
Tabela 4 - Estimativas de <i>odds ratio</i> (OR) relativas ao tipo de sémen	21
Tabela 5 – Taxas de concepção associadas ao tipo de sémen	21
Tabela 6 – Taxa de concepção associada à estação do ano e à aptidão	25
Tabela 7 – Taxas de concepção em função da aptidão da fêmea e raça do sémen utilizado	28
Tabela 8 – Taxas de concepção associadas ao tipo de cio com a paridade.....	36

Lista de Siglas e Acrônimos

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

CL – Corpo Lúteo

eCG – Gonadotrofina Coriônica Equina (do Inglês *Equine Chorionic Gonadotropin*)

GnRH – Hormona Libertadora de Gonadotrofinas (do Inglês *Gonadotropin-Releasing Hormone*)

IA – Inseminação Artificial

IATF – Inseminação Artificial a Tempo Fixo

ITH – Índice de Temperatura e Humidade

LH – Hormona Luteínica (do Inglês *Luteinizing Hormone*)

OR - *Odds ratio*

OV – *Ovsynch*

P4 - Progesterona

P/IA – Gestação por Inseminação Artificial (do Inglês *pregnancy per artificial insemination*)

PG – *Presynch*

PGF2 α – Prostaglandina F2 α

PRID – Protocolo Baseado em Dispositivo de Libertação Intravaginal de Progesterona

PRID® – Dispositivo de Libertação Intravaginal de Progesterona (do Inglês *Progesterone Release Intravaginal Device*)

TC – Taxa de Conceção

1. Introdução

A inseminação artificial (IA) começou a ser utilizada em vacas em 1936 e, no primeiro ano, a taxa de concepção (TC), definida como a percentagem de fêmeas inseminadas que ficaram gestantes, suplantou a obtida através da cobrição natural (Foote, 2010).

As pesquisas que envolveram a técnica de citometria de fluxo para a sexagem de espermatozoides em bovinos começaram em 1980 (Seidel, 2014), mas foram aplicadas com sucesso, em diversas espécies animais, apenas em 1989 (Johnson, 2000). No entanto, a técnica só foi desenvolvida comercialmente em bovinos, estimulada pelo setor leiteiro (De Vries *et al.*, 2008). O princípio da técnica baseia-se na estimativa da quantidade de ácido desoxirribonucleico (ADN) nos cromossomas, uma vez que o cromossoma X tem cerca de 4% mais ADN que o cromossoma Y (Seidel, 2014). De acordo com Frijters e col. (2009), a fertilidade do sémen sexado em vacas é menor que a do sémen convencional, decorrente da menor concentração espermática por dose de IA e lesões no esperma no processo de sexagem.

A nova tecnologia *SpermVital*, com pesquisas desde 2003, começou a ser comercializada em 2009 para sémen da raça Vermelho Norueguês (Global, n.d.). Atualmente, esta tecnologia, que permite prolongar a vida dos espermatozoides após a IA, já está disponível para sémen Frísia. Para tal, as células do esperma são imobilizadas num agente de criopreservação. Esta imobilização conserva a energia e permite, durante um período prolongado de tempo, uma libertação controlada de espermatozoides no útero após a IA. Tal faz com que o tempo ideal de IA seja menos crítico em relação à ovulação, aumentando a probabilidade de sucesso da IA (Spermvital, n.d.). A dissolução do gel e a libertação de células do sémen é projetada para durar pelo menos 24h (Standerholen *et al.*, 2015), até um máximo de 48h (Spermvital, n.d.).

O sucesso da IA, de forma economicamente rentável para as explorações, em animais de elevada produção de leite e requisitos energéticos cada vez mais elevados, é um desafio cada vez maior. A eficiência reprodutiva varia de exploração para exploração, em função da nutrição, deteção de cios, registos existentes, do manejo, higiene e estado sanitário dos animais, bem como de animal para animal. De facto, patologias como endometrites crónicas, quistos ováricos e lesões do oviduto podem afetar individualmente a TC (Chebel *et al.*, 2004). Adicionalmente, vários estudos comprovaram que vacas múltiparas apresentam menores TC que primíparas (52,2% vs. 42,8%) (Baez *et al.*, 2016).

No caso dos bovinos de carne, maioritariamente em regime extensivo, a deteção de cios é um processo complicado e pouco preciso (Ribeiro, 2015). A presença dos vitelos com as mães reduz a atividade ovárica das vacas aleitantes. Em resultado, tem sido comum as vacas de carne, em regime extensivo e em aleitamento, prolongarem o anestro pós-parto, reduzindo as hipóteses do desejável objetivo de um parto por ano. Nestes animais, o recurso a protocolos de sincronização

de cio facilita o uso da IA e permite intervalos parto-concepção mais reduzidos (Echternkamp *et al.*, 2011).

Pelo que antecede, o controle farmacológico do ciclo éstrico constitui um dos fatores determinantes da fertilidade de uma exploração (Ribeiro, 2015), facilitando o manejo reprodutivo de um grande número de animais, num curto período de tempo, com recurso à deteção de cios ou à IA em tempo fixo (IATF) (Macmillan, 2010). Em sistemas intensivos, a implementação da IATF é considerada economicamente vantajosa, especialmente quando a deteção de cios é baixa (Ribeiro *et al.*, 2012).

O stress provocado pelo calor reduz extremamente a TC em vacas de leite (El-Tarabany *et al.*, 2015). Há evidências de que os oócitos de vacas *repeat breeders* recolhidos durante o verão apresentam uma possível disfunção mitocondrial e que são mais propensos a sofrer apoptose, que pode estar associado ao seu baixo potencial de desenvolvimento, também associado a uma desregulação da expressão dos genes associados à mitocôndria (NRF1, POLG, POLG2, PPARGC1A e TFAM), à apoptose (BAX e ITM2B) e à maturação do oócito (FGF16 e GDF9) (Ferreira *et al.*, 2016). Numa outra perspetiva, Honing e col. (2016) comprovaram, após testes com diferentes números de arrefecimentos diários e posterior observação com *doppler*, que com um menor número de arrefecimentos por dia, o fluxo sanguíneo para o folículo dominante é menor, resultando num ciclo éstrico mais longo, com menor fertilidade associada.

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência que alguns fatores podem ter na TC de vacas de aptidão leite e carne sujeitas a inseminação artificial. Os fatores estudados foram: tipo de cio (natural ou induzido), estação do ano, ano de inseminação, tipo de sémen utilizado (raça, convencional, sexado fêmea ou *SpermVital*), aptidão do animal inseminado (leite ou carne), paridade (nulípara ou parípara) e exploração. Adicionalmente analisou-se os outros fatores em função da aptidão e da paridade dos animais. O conhecimento da influência desses fatores é importante na medida em que pode permitir melhorar a eficiência reprodutiva.

2. Material e Métodos

2.1. Amostragem

Os dados analisados correspondem a clientes de serviço de IA que foram realizadas entre Outubro de 2014 e Março de 2016, envolvendo 337 animais de várias explorações da zona centro, pertencentes aos distritos de Aveiro (n=75) e Coimbra (n=6). As explorações consideradas são principalmente de leite (n) em regime intensivo, mas também de carne (n) em regime extensivo, com efetivo adulto máximo de cerca de 50 animais.

A recolha de dados foi feita através de ficha *pocket* (anexo I, figura 4) na qual se anotava a identificação do animal, data da IA e sémen utilizado. Após esta identificação, procedeu-se ao registo numa base de dados excel (anexo II), na qual se colocava o diagnóstico de gestação.

Das 461 IA contabilizadas no estudo, 82 foram realizadas em animais de produção de carne e 379 em animais de produção de leite. A IA foi realizada sempre pelo mesmo médico veterinário, mediante deteção de cio natural ou induzido e/ou após programas de IATF. Apenas animais em cio, saudáveis e sem problemas reprodutivos detetados por palpação retal foram sujeitos a IA.

2.2. Tipo de Sémen

O sémen utilizado no procedimento de IA correspondeu às raças Frísia, Montbéliarde, Vermelho Norueguês, Pardo Suíço, Limousine, Angus, Charolês e Marinhova. Na sua maioria utilizou-se sémen convencional (não sexado), mas também sémen sexado fêmea da raça Frísia e *SpermVital* da raça Vermelha Norueguesa.

2.3. Aptidão do Animal Inseminado

As raças das explorações leiteiras foram, na sua maioria, Frísia, para além de cruzadas de leite Frísia x Montbéliarde e Frísia x Pardo Suíço. Nas explorações de carne, a raça predominante é Marinhova mas também algumas cruzadas de carne.

2.4. Estação do Ano

Para avaliação da influência do clima na TC, os registos mensais foram categorizados de acordo com as estações do ano: primavera (Março, Abril e Maio), verão (Junho, Julho e Agosto), outono (Setembro, Outubro e Novembro) e inverno (Dezembro, Janeiro e Fevereiro).

2.5. Tipo de Cio

Os sinais considerados para a detecção do cio foram: o animal aceitar ou deixar-se montar por outros, inquietação, aumento da atividade, tendência a agruparem-se, corrimento de muco, elástico e transparente, vulva levemente inchada e congestionada, havendo por isso um ligeiro aumento da temperatura corporal e vocalizações (Ribeiro, 2015; Extension, n.d.).

Para além do cio natural, a IA foi efetuada em animais após a sua indução por um de três protocolos: *Ovsynch* (OV), *Presynch* (PG) ou colocação de Dispositivo de Libertação Intravaginal de Progesterona PRID®.

O protocolo OV, aplicado em caso de animais em anestro do tipo II e III, consistiu na administração de duas injeções de um análogo da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) intercalado por uma administração de prostaglandina F2alpha (PGF2α). Tal como representado na figura 1, inicialmente foi administrada a GnRH, a qual promoveu a ovulação da onda folicular em curso ou a luteinização do folículo dominante, de acordo com a fase do ciclo éstrico em que o animal se encontrava. Vinte e quatro horas depois, ocorreu o recrutamento de novos folículos, de 4 a 5 mm, que deverão ter 6 a 9 dias de desenvolvimento até ao dia da IA (Santos *et al.*, 2010). A PGF2α (administrada no dia 7) induziu a regressão do corpo lúteo (CL) (Dezetter *et al.*, 2015) original e/ou do CL induzido (Thatcher *et al.*, 2006). A segunda administração de GnRH (no dia 9) teve como objetivo induzir um pico pré-ovulatório de hormona luteinizante (HL) (Wiltbank *et al.*, 2011) e consequente ovulação do folículo dominante (Pursley *et al.*, 1995) para o momento da IA (16h após).

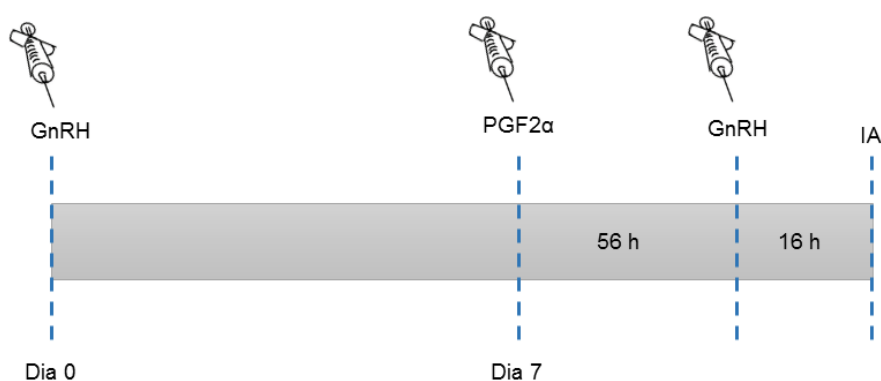


Figura 1 – Representação esquemática do protocolo *Ovsynch*, utilizado em animais com anestros do tipo II e III (Adaptado de Brusveen *et al.*, 2008).

O protocolo de pré-sincronização (Sín. *Presynch*), aplicável a animais cíclicos e com CL, consistiu em duas administrações intervaladas de PGF2 α , com o objetivo de coincidir o protocolo OV com a fase mais favorável do ciclo éstrico, i.e. entre os dias 5 e 9 do ciclo éstrico (Vasconcelos *et al.*, 1999). Este protocolo consistiu em duas administração de PGF2 α , com intervalo de 11 a 14 dias, com ou sem IA mediante detecção de cios, e início do protocolo *Ovsynch* cerca de 11 a 12 dias após a segunda administração (Moreira *et al.*, 2001).

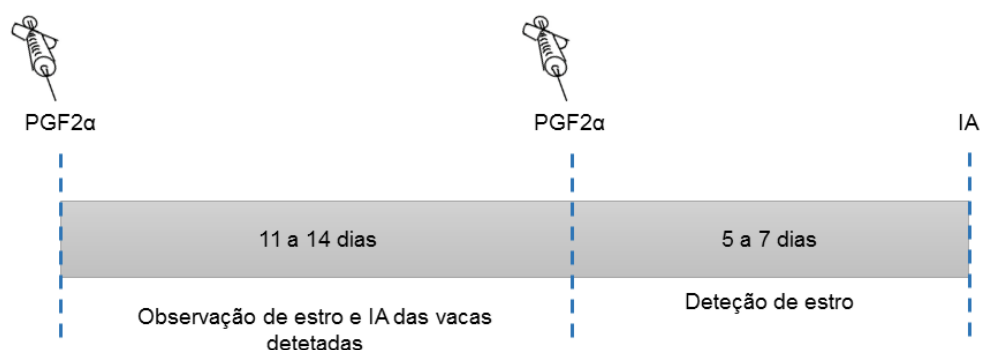


Figura 2 – Representação esquemática do protocolo *Presynch*, utilizado em animais cíclicos e com corpo lúteo (Adaptado de Moreira *et al.*, 2001).

Finalmente, o protocolo PRID, à base de um implante intravaginal que liberta lentamente progesterona (P4), bloqueando o pico pré-ovulatório de LH, aumentando assim a sincronização da ovulação (Chebel *et al.*, 2010). O protocolo *Ovsynch* associado a P4 e com IA às 56 horas resultou na melhoria da TC relativamente ao protocolo *Ovsynch* convencional (McDougall, 2010). A gonadotrofina coriônica equina (eCG) foi efetiva no final do 9º dia de tratamento com progesterona em vacas em anestro (Garcia-Ispuerto *et al.*, 2012).

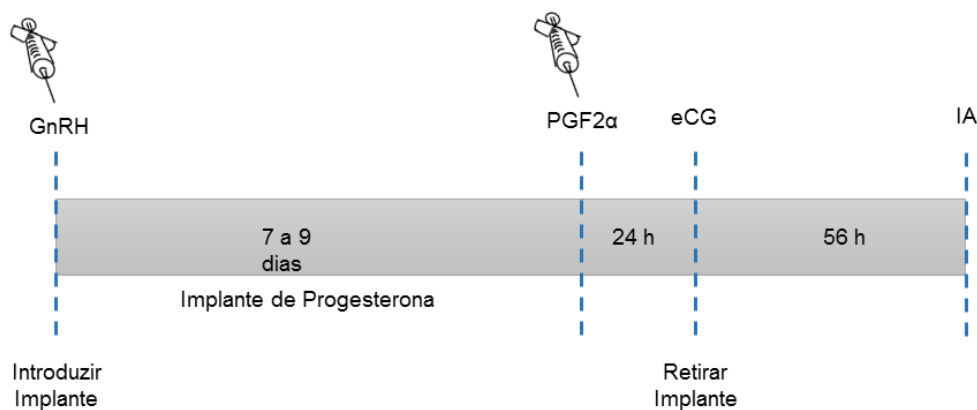


Figura 3 - Representação esquemática do protocolo baseado na administração de progesterona, utilizado em animais em anestro ou subestro (Adaptado de Chebel *et al.*, 2010; Garcia-Ispuerto *et al.*, 2012).

2.6. Inseminação Artificial

As IA's foram realizadas com palhinhas de 0,25 mL de sémen congelado em azoto líquido a -196°C, segundo o procedimento seguinte: Antes da IA verificou-se se o animal estava em cio, recolhiam-se os dados e preparou-se o sémen do touro. Após retirar do *canister*, colocou-se a palhinha em água a 35/37°C com a extremidade da bucha virada para baixo, durante 30 segundos. Enxaguou-se a palhinha, cortou-se a extremidade oposta à bucha e encaixou-se a extremidade cortada na bainha. Introduziu-se o *pistolete* na bainha empurrando a palhinha até à ponta e fixou-se a bainha no aplicador. De seguida, esvaziou-se a ampola retal da vaca com o braço esquerdo e higienizou-se a zona da vulva com papel de modo a evitar contaminações. Com um ângulo de 30 a 40°, colocou-se o *pistolete* na vagina, enquanto se tentou orientar até à entrada do cérvix. Fez-se movimentos com a mão que segurou o cérvix até à passagem completa das 3 pregas cervicais e depositou-se o sémen pós-cervical pressionando o êmbolo. Finalmente, retirou-se o *pistolete* e fez-se uma leve massagem no clitóris da vaca (Peters, n.d.).

2.7. Diagnóstico de Gestação

O diagnóstico de gestação foi feito por palpação retal entre os 30 e os 60 dias após a IA. A confirmação decorreu 15 a 30 dias após o primeiro diagnóstico.

2.8. Análise Estatística

Inicialmente, foram estimadas as frequências dos fatores considerados e utilizou-se o programa Excel e o PROC FREQ do programa SAS (SAS Institute, 2004). A TC foi analisada por regressão logística, através do PROC LOGISTIC do programa SAS (SAS Institute, 2004) com um modelo que incluiu individualmente ou em conjunto os vários fatores.

Posteriormente, também por regressão logística, foi utilizado um modelo de análise que apenas incluiu os fatores que influenciaram significativamente ($p \leq 0,05$) a TC. Foram estimados os rácios de probabilidade (*Odds ratio*) entre os níveis de cada fator que influenciou significativamente a TC.

3. Resultados e Discussão

De entre os vários fatores analisados, verificou-se que apenas o tipo de sémen e o número de partos influenciaram significativamente a TC, com valores de p de 0,005 e 0,004, respetivamente (tabela 1).

Tabela 1 – Resultados da análise da regressão logística

Fator	gl	Qui-Quadrado	p
Ano IA	3	2,652	0,448
Estação IA	2	0,388	0,824
Raça Macho	7	3,167	0,869
Tipo de Sémen	2	10,425	0,005
Aptidão	1	1,276	0,259
Tipo de Cio	3	0,753	0,861
Paridade	1	8,353	0,004

3.1. Paridade

De acordo com os resultados, foram estimados os rácios de probabilidade (*Odds ratio*) entre os níveis de paridade que influenciaram significativamente a TC (tabela 2).

Tabela 2 – Estimativas de *odds ratio* (OR) relativas à paridade

Fator	Estimativa OR	Intervalo de Confiança (95% Wald)
Paridade		
Nulípara vs Parípara	2,319	1,311-4,102

Neste estudo, as nulíparas apresentaram valores de OR de 2,319 em relação às paríparas. Estes valores vão de encontro aos obtidos por Cook e Green (2016), aos 100 dias em leite que registaram valores de 0,67 em vacas com 2 gestações e de 0,53 em vacas com 3 ou mais gestações, associando assim o aumento da paridade à redução de OR de gestação.

Foram também calculadas as TC de acordo com a paridade (tabela 3), com o objetivo de perceber o impacto que a diferença de paridade pode ter na TC.

Tabela 3 – Taxas de concepção associadas à paridade

	Leite		Carne		Total	
	n	TC (%)	n	TC (%)	n	TC (%)
Paridade						
Nulípara	36/58	62,07%	8/11	72,72%	44/69	63,77%
Parípara	153/321	47,66%	40/71	56,34%	193/392	49,23%

n – Número de amostras (gestantes/inseminadas)

Verificou-se que a diferença de TC entre nulíparas e paríparas foi de 14,54%. Vários autores obtiveram resultados de TC mais baixos em múltiparas. Chebel e col. (2004) obtiveram TC de 27,4% e 24,1% para nulíparas e múltiparas, respetivamente. Também no estudo de Garcia-Ispuerto e col. (2013), as TC obtidas nas primíparas e múltiparas foram 42,1% e 35,6% respetivamente. DeJarnette e col., (2010) obtiveram TC com sémen convencional em nulíparas de 60,7% e 31,5% em múltiparas. Apesar dos estudos apresentados não considerarem as mesmas variáveis (nulípara e parípara), todos tiveram em comum o facto de animais com menor número de partos terem apresentado TC melhores que animais com mais partos.

Os resultados registados poderão explicar-se com base no momento em que ocorreu a concepção durante a lactação. Em paríparas a concepção deverá ocorrer entre os 90 e os 130 dias em leite (Giordano *et al.*, 2011). A extensão do balanço energético negativo aumenta com a produção de leite e tem sido associado a baixo sucesso reprodutivo (Patton *et al.*, 2007). As mitocôndrias são responsáveis por produzir a maior parte da energia (sob a forma de ATP) requerida pelo oócito (Wang *et al.*, 2009). Iwata e col. (2011), comprovam que à medida que a maturação do oócito ocorre, aumenta o número de mitocôndrias, e este número diminui com o aumento da idade materna.

3.2. Tipo de Sémen

O tipo de sémen foi um dos fatores que influenciou significativamente a TC pelo que foram estimados os OR entre cada nível deste fator (tabela 4).

Tabela 4 - Estimativas de *odds ratio* (OR) relativas ao tipo de sémen

	Estimativa OR	Intervalo de Confiança
Tipo de Sémen		
Convencional vs Sexado Fêmea	9,552	1,990-45,849
<i>SpermVital</i> vs Sexado Fêmea	5,224	0,980-27,837
Convencional vs <i>SpermVital</i>	1,828	0,925-3,614

O sémen convencional apresentou estimativas de OR mais elevadas que o sémen sexado fêmea e que o *SpermVital*. Por sua vez, o *SpermVital* apresentou maior rácio de probabilidade que o sémen sexado fêmea.

Na tabela 5 são apresentadas as TC do tipo de sémen, bem como a população amostral (n) correspondente. O sémen convencional e o *SpermVital* apresentaram TC de 53,55% e 41,03% respetivamente, comparado aos 15,38% do sémen sexado fêmea.

Tabela 5 – Taxas de conceção associadas ao tipo de sémen

	Leite		Carne		Total	
	n	TC (%)	n	TC (%)	n	TC (%)
Tipo de sémen						
Convencional	171/327	52,29%	48/82	58,54%	219/409	53,55%
Sexado Fêmea	2/13	15,38%	s/d	s/d	2/13	15,38%
<i>SpermVital</i>	16/39	41,03%	s/d	s/d	16/39	41,03%

n – Número de amostras

s/d - Sem dados

Uma vez que a produção de sémen sexado é limitada, uma dose comercial contém $2,1 \times 10^6$ de sémen, sendo que a dose típica de sémen convencional contém $15-20 \times 10^6$ de sémen (Garner *et al.*, 2008). Andersson e col. (2006) compararam diferentes concentrações (2×10^6 e 15×10^6) de espermatozoides em sémen não sexado e obtiveram diferenças nas taxas de gestação de 14%, concluindo que a concentração de espermatozoides influencia a taxa de gestação e que, em última análise, essa é a causa para a baixa taxa de gestação do sémen sexado. De acordo com Frijters e col. (2009), o menor número de espermatozoides por dose de IA e danos no esperma no processo de sexagem estão na origem das diferenças de taxas de gestação. Mais recentemente, DeJarnette e col. (2011) compararam diferentes concentrações ($2,1 \times 10^6$ e 10×10^6) de espermatozoides de sémen sexado em nulíparas e obtiveram TC de 38% e 44% respetivamente. Apesar de os valores não serem os espectáveis e a TC ter ficado aquém das TC do sémen convencional (60% com concentração de 10×10^6), os autores verificaram que a dosagem de sémen é um fator que influencia a TC ($p < 0,01$).

É de realçar que o baixo número de procedimentos de IA com sémen sexado efetuados no presente estudo ($n=13$ das quais 6 em paríparas), pode também ter afetado este resultado. O sémen sexado fêmea está mais indicado para utilização em nulíparas, uma vez que vacas múltiparas apresentam menores TC. Chebel e col. (2004) registaram esta diferença de conceção, com uma probabilidade 2,3 vezes superior de conceção nulíparas *versus* múltiparas.

No que diz respeito ao *SpermVital*, a maioria dos estudos apresenta resultados de taxas de gestação de IA superiores às do sémen convencional. Num estudo realizado com vacas da raça Frísia, em 2012, a TC do sémen *SpermVital* aumentou em média 25% em relação ao sémen convencional, sendo a taxa de gestação com sémen convencional de 33,50% e com *SpermVital* de 41,90%. A diferença na TC entre *SpermVital* e sémen convencional foi de 38% em vacas que precisaram de mais que três IA. Estes resultados mostraram que a tecnologia *SpermVital* aumenta a TC em *repeat breeders* (*Spermvital*, *n.d.*)

No entanto, no presente estudo tal não se verificou, podendo ser explicado pelo facto do sémen *SpermVital*, ao contrário do sémen convencional, ter sido apenas utilizado em animais problema. Adicionalmente, se o animal tiver outros problemas, não identificáveis à palpação, como défices de P4, lesões no oviduto, endometrites subclínicas, o fator sémen não será determinante na TC.

3.3. Tipo de Cio

O tipo de cio foi um dos fatores estudados que influenciou significativamente a TC (tabela 8; anexo III).

Conforme ilustrado no gráfico 1, o protocolo PRID foi o que apresentou a melhor TC total. Nas nulíparas de leite e nulíparas total sujeitas a OV, a TC foi de 100%, no entanto, o “n” foi apenas 1/1 pelo que o resultado não tem significado.

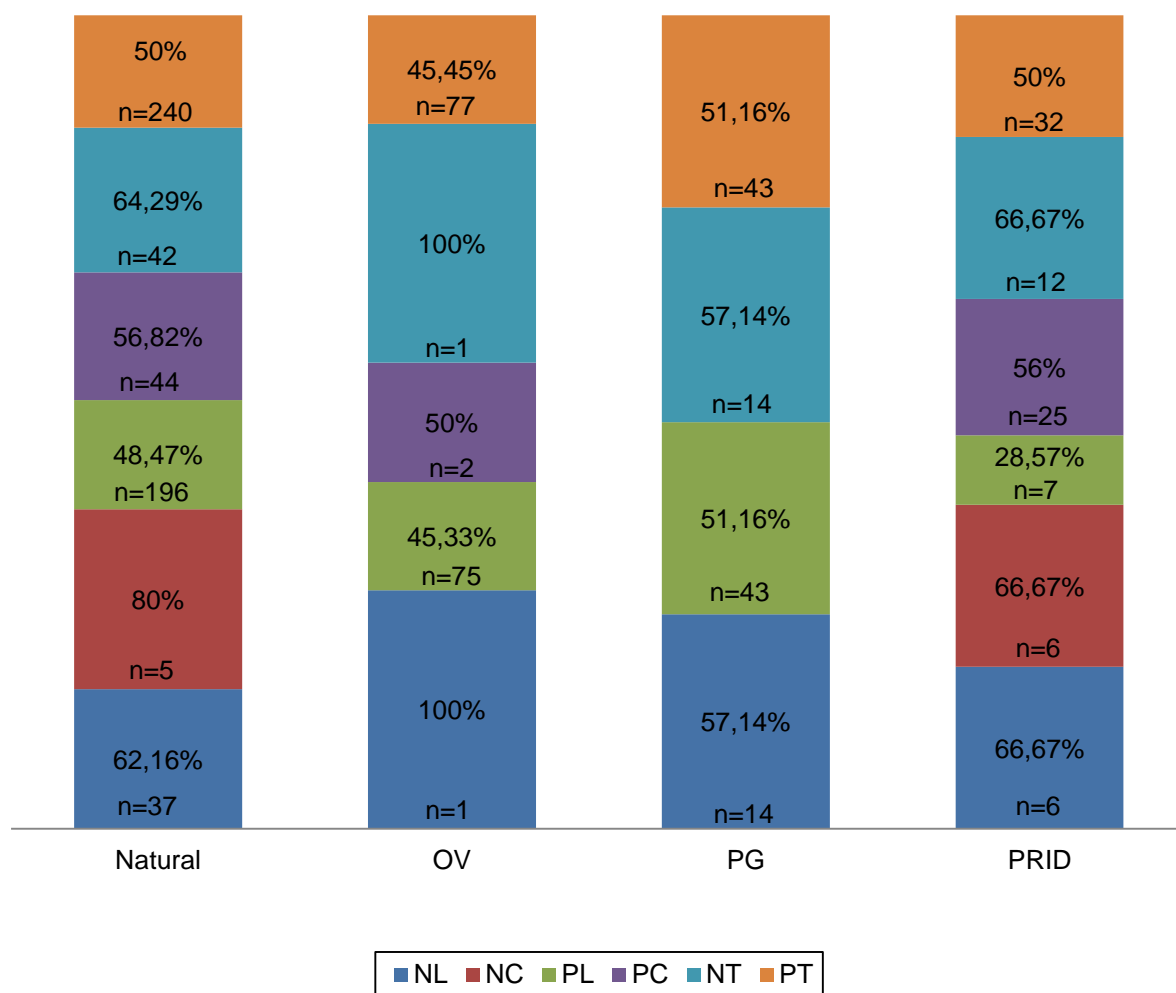


Gráfico 1 – Taxas de concepção do tipo de cio associadas à paridade e aptidão.

(NL – Nulípara de Leite; NC – Nulípara de Carne; PL – Parípara de Leite; PC – Parípara de Carne; NT – Nulípara Total; PT – Parípara total)

Garcia-Isperto e col. (2010) afirmam que os protocolos com base na administração progesterona não melhoram a fertilidade, no entanto, vacas com implante de progesterona podem ser inseminadas mais cedo que vacas sem implante. As perdas de gestação também foram menores nas vacas com implante de progesterona.

O protocolo *Ovsynch* tem algumas limitações, nomeadamente facto de uma dose de PGF2 α ser insuficiente para a regressão completa do CL (Santos *et al.*, 2010). Acresce que o momento da primeira administração do *Ovsynch* é um fator importante, uma vez que a ovulação após a primeira administração de GnRH, em fases aleatórias do ciclo éstrico, varia entre 50% a 60%, chegando aos 70% quando a pré-sincronização antecede o *Ovsynch* (Bisinotto *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2012). O início do *Ovsynch* entre o dia 5 e 9 do ciclo resulta em melhor taxa de sincronização (Vasconcelos *et al.*, 1999).

Fricke e col. (2014) estudaram a utilização destes 3 protocolos de IATF e obtiveram 30% de taxa de gestação em vacas inseminadas após a segunda administração de PGF2 α do protocolo *Presynch*, mediante aumento da atividade e 41% em vacas sujeitas ao *Presynch* seguido de *Ovsynch*. Estes resultados vão de encontro ao estudo de Giordano e col. (2011) segundo o qual, de uma forma fisiológica, vacas com IA realizada após uma segunda injeção de PGF2 α do *Presynch-Ovsynch* apresentam baixa fertilidade. Também o momento da IA em relação à ovulação é mais preciso depois da sincronização ou da IATF em comparação com vacas inseminadas com cio natural (Valenza *et al.*, 2012). Acresce que o momento da IA é controverso. Brusveen e col. (2008) compararam três modificações do intervalo entre a administração de PGF2 α e a IA. A administração de GnRH às 56h e IA 16h a seguir, permitiu obter uma gestação por IA (P/IA) aos 31 - 33 dias de 36,1%, enquanto nos protocolos que consideram o intervalo de 72h e 48h para administração de GnRH e IA obtiveram, respetivamente, uma P/IA de 27,3% e 26,7%.

3.4. Estação do Ano

A estação do ano na qual foi realizado o procedimento de IA não influenciou a TC ($p=0,824$), tendo sido calculadas as TC respetivas a cada estação de acordo com a aptidão (tabela 6 e gráfico 2).

Tabela 6 – Taxa de concepção associada à estação do ano e à aptidão

Estação do Ano	Leite		Carne		Total	
	n	TC (%)	n	TC (%)	n	TC (%)
Primavera	38/67	56,72%	8/14	57,14%	46/81	56,79%
Verão	34/84	40,48%	9/11	81,82%	43/95	45,26%
Outono	56/106	52,83%	19/32	59,38%	75/138	54,35%
Inverno	61/122	50%	12/25	48%	73/147	49,66%

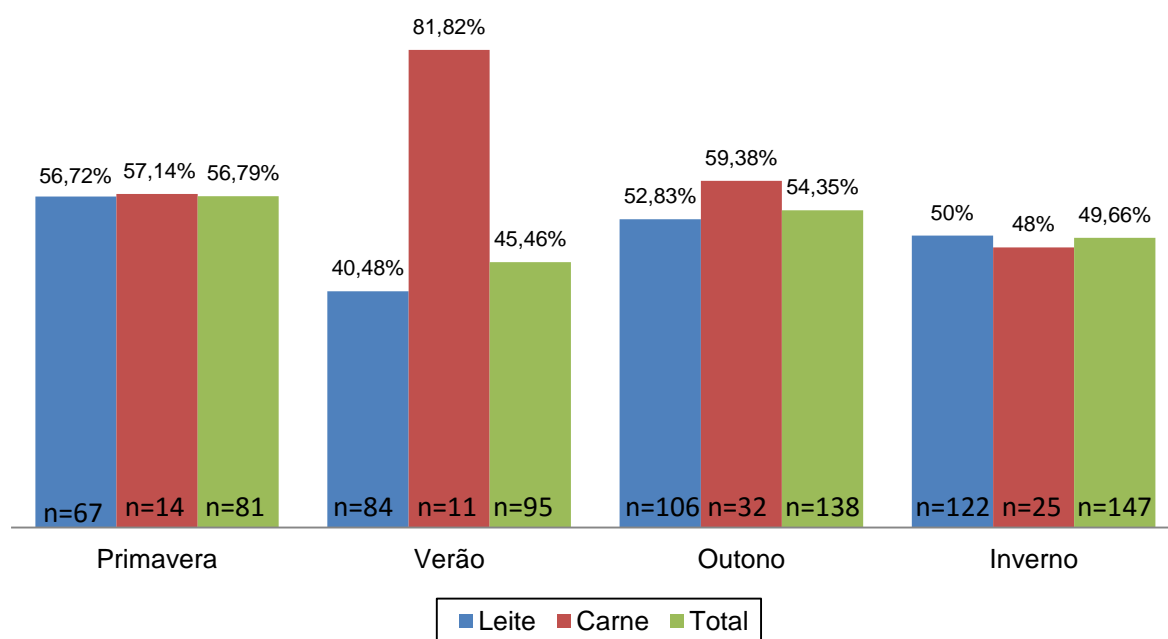


Gráfico 2 – Taxas de concepção associadas à estação de ano.

Os valores de TC não sofreram grandes alterações à exceção da estação do Verão em que animais de carne apresentaram TC de 81,82% e animais de aptidão leiteira de 40,48%. West (2003) afirma que vacas de alta produção são particularmente afetadas pelo *stress* térmico

porque a tolerância ao calor diminui com o aumento da produção de leite e com a ingestão de matéria seca, o que explica os valores das TC em vacas de aptidão leiteira no Verão, neste estudo. Também os OR diminuem com o aumento do número de horas com índice de temperatura e humidade (Ferreira *et al.*) de 73 ou mais, indicando um efeito negativo na TC (Schuller *et al.*, 2014).

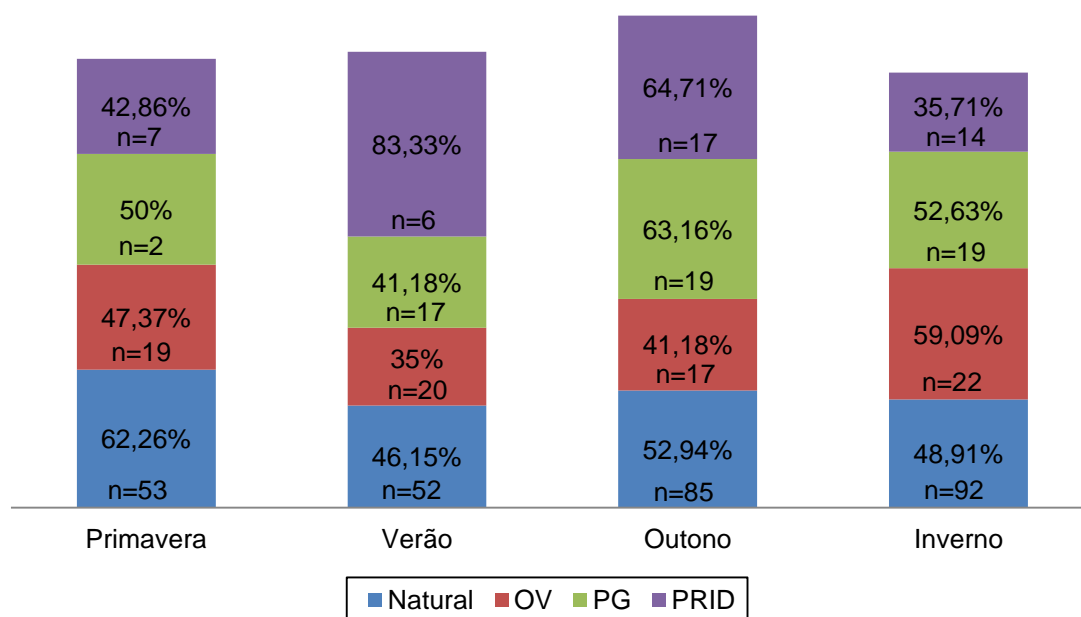


Gráfico 3 – Taxas de concepção associadas à estação de ano e ao tipo de cio.

Apesar de a estação do ano e o tipo de cio não terem tido influência na TC, são também fatores a discutir a problemática do *stress* térmico (gráfico 3). Comparando os mesmos fatores de cio a diferentes ITH (baixo<70, moderado>70 e <75, elevado>80), verificou-se no ITH elevado o protocolo com progesterona foi o que teve mais sucesso (TC=31,1%) seguido do *Presynch* (TC=21,6) enquanto no ITH moderado, o protocolo com progesterona foi o que teve mais sucesso (TC=36,3%) seguido do cio natural (TC=30,3%) (El-Tarabany *et al.*, 2015).

3.5. Aptidão do Animal Inseminado

Ao contrário da percepção de quem trabalha no setor, a aptidão do animal inseminado (leite ou carne) não influenciou significativamente a TC, apesar dos animais de aptidão carne terem, como expectável, apresentado valores de TC superiores (gráfico 4).

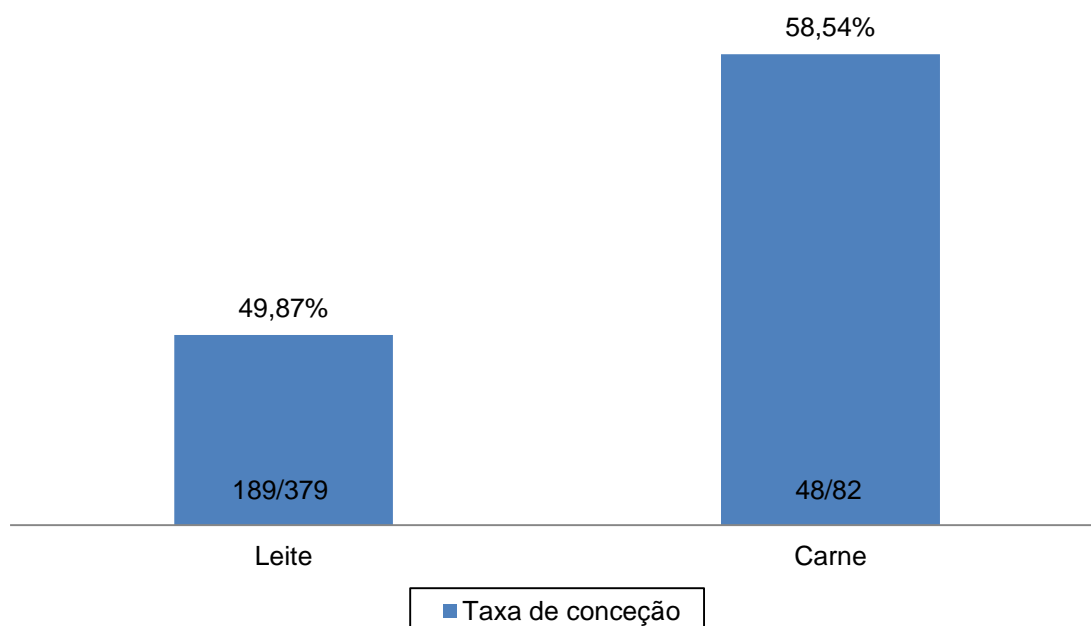


Gráfico 4 – Taxas de concepção associadas à aptidão do animal inseminado.

Nas últimas décadas o ganho genético levou a que vacas leiteiras adquirissem melhor capacidade de produção leiteira (Tsuruta *et al.*, 2005) e os animais de carne, conseguissem maiores taxas de crescimento (Randel *et al.*, 2013). Contudo, estes desenvolvimentos têm sido acompanhados por uma tendência negativa na fertilidade e consequentemente a principal razão de abate, reduzindo a longevidade (Wathes *et al.*, 2014). Recentemente, Dezetter e col. (2015) demonstraram que um aumento de 1% na taxa de consanguinidade tem efeitos negativos na TC. Nos Estados Unidos da América estima-se que, entre 1970 e 2015, ocorreu um aumento do coeficiente médio de consanguinidade em vacas Frísia, de 0,4% para 6,71%, respetivamente, a par do aumento de produção (CDCB, 2016). Deste modo, a consanguinidade poderá explicar a diferença de TC obtida no presente estudo, uma vez que os animais de leite são maioritariamente Frísia (n=156). No entanto, os valores obtidos não são tão díspares dos reportados por estudos anteriores, provavelmente porque as restantes IA's de leite foram efetuadas com sêmen de outras raças (tabela 5).

3.6. Raça do Sêmen

A raça do sêmen utilizado foi um dos fatores analisados, pelo que na tabela 7 estão representadas as taxas de concepção de acordo com cada raça utilizada em função da aptidão.

Tabela 7 – Taxas de concepção em função da aptidão da fêmea e raça do sêmen utilizado

	Leite		Carne		Total	
	n	TC	n	TC	n	TC
Raça do Macho						
Frísia	82/156	52,56%	s/d	s/d	82/156	52,56%
Vermelho Norueguês	46/102	45,10%	s/d	s/d	46/102	45,10%
Pardo Suíço	6/9	66,67%	1/1	100%	7/10	70%
Montbéliarde	23/45	51,11%	0/1	0%	23/46	50%
Limousine	18/35	51,43%	17/26	65,38%	35/61	57,38%
Angus	12/25	48%	14/27	51,85%	26/52	50%
Charolês	1/1	100%	6/11	54,55%	7/12	58,33%
Marinhova	1/6	16,67%	10/16	62,50%	11/22	50%

s/d – sem dados

Nos dados obtidos, o sêmen das raças Frísia, Vermelho Norueguês, Montbéliarde e Pardo Suíço foram maioritariamente utilizados em animais de aptidão leiteira, raça Frísia. O sêmen Vermelho Norueguês foi maioritariamente *SpermVital* pelo que o resultado já foi discutido. Por outro lado, o sêmen Montbéliarde, obteve valores semelhantes ao Frísio, dentro dos parâmetros de referência atuais para vacas de leite. No que ao Pardo Suíço diz respeito, a reduzida amostragem condicionou estatisticamente o elevado valor de TC.

O sêmen das raças Limousine, Angus, Charolês e Marinhova foram principalmente usados em animais de aptidão carne e obtiveram valores médios de TC mais elevados, no entanto não se mostraram estatisticamente significativos

3.7. Exploração

Cada exploração tem diferenças na nutrição, detecção de cios, registros existentes, do manejo, higiene e estado sanitário dos animais, bem como de animal para animal influenciando, deste modo, a eficiência reprodutiva de cada exploração (Chebel *et al.*, 2004). Fatores do leite, nomeadamente infecções subclínicas da glândula mamária, estão associados a alterações na TC (Lavon *et al.*, 2011). No estudo de Cook e Green (2016) o aumento da contagem de células somáticas no leite, até aos 60 dias em leite, está associado a uma diminuição de probabilidades da vaca ficar gestante até aos 100 dias em leite. Neste estudo, o fator exploração não influenciou a TC por IA.

3.8. Ano de Inseminação

O ano de inseminação foi também um fator tido em conta neste estudo, mas não mostrou ter influência na TC.

4. Conclusões

Cada vez mais os produtores de leite e carne devem ter presente que o aumento da produção não significa obrigatoriamente mais rendimento e que a fertilidade é uma das peças chave para garantir a continuidade da exploração.

Face aos dados obtidos neste estudo, verificou-se que a paridade e o tipo de sémen utilizado são os fatores que influenciaram significativamente a TC à IA. De facto, as nulíparas apresentaram melhores TC em relação às paríparas, sendo o sémen convencional o mais eficiente. Os restantes fatores (tipo de cio, estação do ano, raça do sémen, aptidão, exploração e ano de IA) não influenciaram significativamente a TC. As diferenças de TC mostraram ir de encontro à bibliografia consultada. A utilização da informação transmitida neste trabalho, pode levar a um aumento da eficiência reprodutiva da exploração. Seria interessante haver mais estudos no tema de forma a poder comparar dados, avaliar outras variáveis e aumentar a capacidade reprodutiva de acordo com essas informações.

Depois da recolha de dados iniciada neste estudo, deverá ser continuada de forma a aumentar a amostragem e tirar conclusões ainda mais exatas. Por outro lado, a paridade deve ser estudada em função do número de partos dos animais inseminados, desde que essa informação esteja facilmente disponível.

5. Bibliografia

- Andersson, M., Taponen, J., Kommeri, M., & Dahlbom, M. (2006). Pregnancy rates in lactating Holstein-Friesian cows after artificial insemination with sexed sperm. *Reprod Domest Anim*, 41(2), 95-97.
- Baez, G. M., Barletta, R. V., Guenther, J. N., Gaska, J. M., & Wiltbank, M. C. (2016). Effect of uterine size on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*, 85(8), 1357-1366.
- Bisinotto, R. S., & Santos, J. E. (2011). The use of endocrine treatments to improve pregnancy rates in cattle. *Reprod Fertil Dev*, 24(1), 258-266.
- Brusveen, D. J., Cunha, A. P., Silva, C. D., Cunha, P. M., Sterry, R. A., Silva, E. P., Guenther, J. N., & Wiltbank, M. C. (2008). Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during Ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 91(3), 1044-1052.
- Buckley, F., Lopez-Villalobos, N., & Heins, B. J. (2014). Crossbreeding: implications for dairy cow fertility and survival. *Animal*, 8 Suppl 1, 122-133.
- CDCB. (2016). Trend in Inbreeding Coefficients of Cows for Holstein or Red & White. Retrieved April 10th, 2016, from <https://www.cdc.us/eval/summary/inbrd.cfm?>
- Chebel, R. C., Al-Hassan, M. J., Fricke, P. M., Santos, J. E., Lima, J. R., Martel, C. A., Stevenson, J. S., Garcia, R., & Ax, R. L. (2010). Supplementation of progesterone via controlled internal drug release inserts during ovulation synchronization protocols in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 93(3), 922-931.
- Chebel, R. C., Santos, J. E., Reynolds, J. P., Cerri, R. L., Juchem, S. O., & Overton, M. (2004). Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci*, 84(3-4), 239-255.
- Cook, J. G., & Green, M. J. (2016). Use of early lactation milk recording data to predict the calving to conception interval in dairy herds. *J Dairy Sci*, 99(6), 4699-4706.
- De Vries, A., Overton, M., Fetrow, J., Leslie, K., Eicker, S., & Rogers, G. (2008). Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry. *J Dairy Sci*, 91(2), 847-856.
- DeJarnette, J. M., Leach, M. A., Nebel, R. L., Marshall, C. E., McCleary, C. R., & Moreno, J. F. (2011). Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible? *J Dairy Sci*, 94(7), 3477-3483.
- DeJarnette, J. M., McCleary, C. R., Leach, M. A., Moreno, J. F., Nebel, R. L., & Marshall, C. E. (2010). Effects of 2.1 and 3.5x10⁶ sex-sorted sperm dosages on conception rates of Holstein cows and heifers. *J Dairy Sci*, 93(9), 4079-4085.
- Dezetter, C., Leclerc, H., Mattalia, S., Barbat, A., Boichard, D., & Ducrocq, V. (2015). Inbreeding and crossbreeding parameters for production and fertility traits in Holstein, Montbeliarde, and Normande cows. *J Dairy Sci*, 98(7), 4904-4913.
- Echternkamp, S. E., & Thallman, R. M. (2011). Factors affecting pregnancy rate to estrous synchronization and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *J Anim Sci*, 89(10), 3060-3068.
- El-Tarabany, M. S., & El-Tarabany, A. A. (2015). Impact of thermal stress on the efficiency of ovulation synchronization protocols in Holstein cows. *Anim Reprod Sci*, 160, 138-145.
- Extension, P. (n.d.). Signs of Heat. Retrieved April 10th, 2016, from <http://extension.psu.edu/animals/dairy/health/reproduction/insemination/ec402/signs-of-heat>
- Ferreira, R. M., Chiaratti, M. R., Macabelli, C. H., Rodrigues, C. A., Ferraz, M. L., Watanabe, Y. F., Smith, L. C., Meirelles, F. V., & Baruselli, P. S. (2016). The Infertility of Repeat-Breeder Cows During Summer Is Associated with Decreased Mitochondrial DNA and Increased Expression of Mitochondrial and Apoptotic Genes in Oocytes. *Biol Reprod*, 94(3), 66.
- Foote, R. (2010). The history of artificial insemination: Selected notes and notables. *J. Anim. Sci*, 80, 1-10.
- Fricke, P. M., Giordano, J. O., Valenza, A., Lopes, G., Jr., Amundson, M. C., & Carvalho, P. D. (2014). Reproductive performance of lactating dairy cows managed for first service using timed artificial insemination with or without detection of estrus using an activity-monitoring system. *J Dairy Sci*, 97(5), 2771-2781.

- Frijters, A. C., Mullaart, E., Roelofs, R. M., van Hoorne, R. P., Moreno, J. F., Moreno, O., & Merton, J. S. (2009). What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? *Theriogenology*, 71(1), 64-67.
- Garcia-Ispuerto, I., Lopez-Gatius, F., Bech-Sabat, G., Yaniz, J. L., Angulo, E., Maris, C., Floc'h, S., & Martino, A. (2010). Effects of a progesterone-based oestrous synchronization protocol in 51- to 57-day postpartum high-producing dairy cows. *Reprod Domest Anim*, 45(5), e168-173.
- Garcia-Ispuerto, I., Lopez-Helguera, I., Martino, A., & Lopez-Gatius, F. (2012). Reproductive performance of anoestrous high-producing dairy cows improved by adding equine chorionic gonadotrophin to a progesterone-based oestrous synchronizing protocol. *Reprod Domest Anim*, 47(5), 752-758.
- Garcia-Ispuerto, I., Rosello, M. A., De Rensis, F., & Lopez-Gatius, F. (2013). A five-day progesterone plus eCG-based fixed-time AI protocol improves fertility over spontaneous estrus in high-producing dairy cows under heat stress. *J Reprod Dev*, 59(6), 544-548.
- Garner, D. L., & Seidel, G. E., Jr. (2008). History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology*, 69(7), 886-895.
- Giordano, J. O., Fricke, P. M., Wiltbank, M. C., & Cabrera, V. E. (2011). An economic decision-making support system for selection of reproductive management programs on dairy farms. *J Dairy Sci*, 94(12), 6216-6232.
- Global, G. (n.d.). SpermVital technology. Retrieved April 10th, 2016, from <http://www.genoglobal.com/Start/About-Geno/Spermvital-technology/>
- Heins, B. J., & Hansen, L. B. (2012). Short communication: Fertility, somatic cell score, and production of NormandexHolstein, MontbeliardexHolstein, and Scandinavian Red x Holstein crossbreds versus pure Holsteins during their first 5 lactations. *J Dairy Sci*, 95(2), 918-924.
- Honig, H., Ofer, L., Kaim, M., Jacobi, S., Shinder, D., & Gershon, E. (2016). The effect of cooling management on blood flow to the dominant follicle and estrous cycle length at heat stress. *Theriogenology*.
- Iwata, H., Goto, H., Tanaka, H., Sakaguchi, Y., Kimura, K., Kuwayama, T., & Monji, Y. (2011). Effect of maternal age on mitochondrial DNA copy number, ATP content and IVF outcome of bovine oocytes. *Reprod Fertil Dev*, 23(3), 424-432.
- Johnson, L. A. (2000). Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state-of-the-art. *Anim Reprod Sci*, 60-61, 93-107.
- Lamb, G. C., Dahlen, C. R., Larson, J. E., Marquezini, G., & Stevenson, J. S. (2010). Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. *J Anim Sci*, 88(13 Suppl), E181-192.
- Lavon, Y., Leitner, G., Klipper, E., Moallem, U., Meidan, R., & Wolfenson, D. (2011). Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. *Domest Anim Endocrinol*, 40(2), 98-109.
- Macmillan, K. L. (2010). Recent advances in the synchronization of estrus and ovulation in dairy cows. *J Reprod Dev*, 56 Suppl, S42-47.
- McDougall, S. (2010). Effects of treatment of anestrous dairy cows with gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin, and progesterone. *J Dairy Sci*, 93(5), 1944-1959.
- Moreira, F., Orlandi, C., Risco, C. A., Mattos, R., Lopes, F., & Thatcher, W. W. (2001). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 84(7), 1646-1659.
- Patton, J., Kenny, D. A., McNamara, S., Mee, J. F., O'Mara, F. P., Diskin, M. G., & Murphy, J. J. (2007). Relationships among milk production, energy balance, plasma analytes, and reproduction in Holstein-Friesian cows. *J Dairy Sci*, 90(2), 649-658.
- Peters, M. O. C. J. (n.d.). Artificial Insemination Technique. Retrieved June 4th, 2016, from <http://extension.psu.edu/animals/dairy/health/reproduction/insemination/artificial-insemination-technique>
- Pursley, J. R., Mee, M. O., & Wiltbank, M. C. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology*, 44(7), 915-923.
- Randel, R. D., & Welsh, T. H., Jr. (2013). Joint Alpha-Beta Species Symposium: interactions of feed efficiency with beef heifer reproductive development. *J Anim Sci*, 91(3), 1323-1328.
- Ribeiro, A. C. (2015). *Controlo Reprodutivo em Bovinos* (Publicações Ciência & Vida ed.): Publicações Ciência e Vida, Lda.

- Ribeiro, E. S., Bisinotto, R. S., Favoreto, M. G., Martins, L. T., Cerri, R. L., Silvestre, F. T., Greco, L. F., Thatcher, W. W., & Santos, J. E. (2012). Fertility in dairy cows following presynchronization and administering twice the luteolytic dose of prostaglandin F2alpha as one or two injections in the 5-day timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*, 78(2), 273-284.
- Santos, J. E., Narciso, C. D., Rivera, F., Thatcher, W. W., & Chebel, R. C. (2010). Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. *J Dairy Sci*, 93(7), 2976-2988.
- Schuller, L. K., Burfeind, O., & Heuwieser, W. (2014). Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature-humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. *Theriogenology*, 81(8), 1050-1057.
- Seidel, G. E., Jr. (2014). Update on sexed semen technology in cattle. *Animal*, 8 Suppl 1, 160-164.
- SpermVital. (n.d.). SpermVital – Increasing Possibilities. Retrieved April 10th, 2016, from <http://www.spermvital.com/>
- Standerholen, F. B., Waterhouse, K. E., Larsgard, A. G., Garmo, R. T., Myromslien, F. D., Sunde, J., Ropstad, E., Klinkenberg, G., & Kommisrud, E. (2015). Use of immobilized cryopreserved bovine semen in a blind artificial insemination trial. *Theriogenology*, 84(3), 413-420.
- Thatcher, W. W., Bilby, T. R., Bartolome, J. A., Silvestre, F., Staples, C. R., & Santos, J. E. (2006). Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenology*, 65(1), 30-44.
- Tsuruta, S., Misztal, I., & Lawlor, T. J. (2005). Changing definition of productive life in US Holsteins: effect on genetic correlations. *J Dairy Sci*, 88(3), 1156-1165.
- Valenza, A., Giordano, J. O., Lopes, G., Jr., Vincenti, L., Amundson, M. C., & Fricke, P. M. (2012). Assessment of an accelerometer system for detection of estrus and treatment with gonadotropin-releasing hormone at the time of insemination in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 95(12), 7115-7127.
- Vasconcelos, J. L., Silcox, R. W., Rosa, G. J., Pursley, J. R., & Wiltbank, M. C. (1999). Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 52(6), 1067-1078.
- Wang, L. Y., Wang, D. H., Zou, X. Y., & Xu, C. M. (2009). Mitochondrial functions on oocytes and preimplantation embryos. *J Zhejiang Univ Sci B*, 10(7), 483-492.
- Wathes, D. C., Pollott, G. E., Johnson, K. F., Richardson, H., & Cooke, J. S. (2014). Heifer fertility and carry over consequences for life time production in dairy and beef cattle. *Animal*, 8 Suppl 1, 91-104.
- West, J. W. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 86(6), 2131-2144.
- Wiltbank, M. C., Souza, A. H., Carvalho, P. D., Bender, R. W., & Nascimento, A. B. (2011). Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. *Reprod Fertil Dev*, 24(1), 238-243.
- Windig, J. J., Calus, M. P., & Veerkamp, R. F. (2005). Influence of herd environment on health and fertility and their relationship with milk production. *J Dairy Sci*, 88(1), 335-347.

6. Anexos

Anexo I – Ficha *pocket*

SUB CENTRO I.A.:		CÓD. N.º:						
tecnogen		1.200						
NOME DO PROPRIETÁRIO:		CÓD. EXPLORAÇÃO						
LOCALIDADE:		<table border="1"> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>						
V A C A	DATA DE INSEMINAÇÃO: / /							
	N.º SNIRB:							
	NOME:							
	RAÇA: H. FRISIA <input type="checkbox"/> OUTRA:							
	I.A. Anterior (se houve) N.º Data:							
T O U R O	IDENTIFICAÇÃO DO SEMEN							
	N.º SNIRB:							
	NOME:							
	RAÇA: H. FRISIA <input type="checkbox"/> OUTRA:							
	Data do Lote: País, Cód.:							
O ORIGINAL E O DUPLICADO SÃO ENTREGUES AO PROPRIETÁRIO, O TRIPLICADO FICA NO SUB-CENTRO.								
OBS.		INSEMINADOR (Ass.)						
		CÓDIGO INSEMINADOR						

Figura 4 – Exemplo de ficha *pocket*.

Anexo II – Base de dados de recolha de informação das IA's

Microsoft Excel interface showing a data collection form for animal information. The form is structured as a table with columns for various attributes and rows for data entry.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
	Estação do ano	Ano da IA	Identificação da exploração	Identificação do animal	Raça do sêmen	Tipo de cruzamento	Tipo de sêmen	Aptidão do animal	Tipo de cio	Diagnóstico de gestação	Número de partos	
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
11												
12												
13												
14												
15												

Anexo III – Tabela relativa às taxas de concepção associadas ao tipo de cio, de acordo com a paridade

Tabela 8 – Taxas de concepção associadas ao tipo de cio com a paridade

	Nulíparas		Paríparas		Total	
	n	TC (%)	n	TC (%)	n	TC (%)
Tipo de Cio						
Natural	27/42	64,29%	120/240	50%	147/282	52,13%
OV	1/1	100%	35/77	45,45%	36/78	46,15%
PG	8/14	57,14%	22/43	51,16%	30/57	52,63%
PRID	8/12	66,67%	16/32	50%	24/44	54,55%